

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 20 July 1999 (20.07.99)	
International application No. PCT/JP98/05470	Applicant's or agent's file reference S-12-PCT
International filing date (day/month/year) 03 December 1998 (03.12.98)	Priority date (day/month/year) 03 December 1997 (03.12.97)
Applicant YAMAZAKI, Naoki et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

02 July 1999 (02.07.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Sean Taylor Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>6</sup> A61K38/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl.<sup>6</sup> A61K38/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Soukichi Kawa et al., "HGF no sayou hatsugen shihyou to shite <sup>99m</sup> Tc-GSA kecchuu shoushitsu ritsu", Basic Pharmacology & Therapeutics, 1996, Vol. 24, Suppl. 1, pages 149 to 152 & Chem. abstr., Vol. 124, 1996 (Columbus, OH, USA), the abstract no. 307789	1 2-5
Y	IGAWA, TSUKASA et al., Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury, Am. J. Physiol., 1993, Vol. 265, No. 1, Pt. 2, F61-F69	2, 3
Y	KAWAIDA, KOUICHI et al., Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, Vol. 91, pp.4357-4361	2, 3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
19 March, 1999 (19. 03. 99)Date of mailing of the international search report  
6 April, 1999 (06. 04. 99)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kunio Matsunaga et al., "HGF no rinshou ouyou-nanchisei shikkan chiryouyaku to shite no atarashii Target", Jikken Igaku, 1997, June, Vol. 15, No. 9 (special edition), pages 1040 to 1047 Chem. abstr., Vol. 127, 1997 (Columbus, OH, USA), the abstract no. 104444	2, 3
Y	JP, 4-49246, A (Toshikazu Nakamura), 18 February, 1992 (18. 02. 92) & EP, 462549, A	2, 3
Y	WO, 97/12628, A1 (GENGENTECH, INC.), 10 April, 1997 (10. 04. 97) (Family: none)	4, 5

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6, 7

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 6 and 7 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, and thus relate to subject matters which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# PCT

## REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference  
(if desired) (12 characters maximum)

S-12-PCT

### Box No. I TITLE OF INVENTION

Preparation for continuous intravenous administration

### Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.  
2-8, Doshomachi 2-chome, Chuo-ku,  
Osaka-shi, Osaka 541-0045 Japan

☐ This person is also inventor.

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:

JAPAN

State (that is, country) of residence:

JAPAN

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☒ all designated States except the United States of America

☐ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

### Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

YAMAZAKI Naoki  
c/o Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.,  
1-98, Kasugadenaka 3-chome, Konohana-ku, Osaka-shi,  
Osaka 554-0022 Japan

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

JAPAN

State (that is, country) of residence:

JAPAN

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☒ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

### Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

8548 Patent attorney HIROSE Takayoshi  
Takahashi Bldg. Kita-sangokan 6th Floor, 13-3, Nishitenma  
5-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-0047 Japan

Telephone No.

06-315-8021

Facsimile No.

06-315-8025

Teleprinter No.

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

*If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.*

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

NAGANO Tomokazu  
c/o Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.,  
1-98, Kasugadenaka 3-chome, Konohana-ku, Osaka-shi,  
Osaka 554-0022 Japan

This person is:

- ☐ applicant only  
☒ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

JAPAN

State (that is, country) of residence:

JAPAN

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

MORI Ikuo  
c/o Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.,  
1-98, Kasugadenaka 3-chome, Konohana-ku, Osaka-shi,  
Osaka 554-0022 Japan

This person is:

- ☐ applicant only  
☒ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

JAPAN

State (that is, country) of residence:

JAPAN

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

SEKINE Michitoshi  
c/o Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd.,  
1-98, Kasugadenaka 3-chome, Konohana-ku, Osaka-shi,  
Osaka 554-0022 Japan

This person is:

- ☐ applicant only  
☒ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

JAPAN

State (that is, country) of residence:

JAPAN

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only  
☐ applicant and inventor  
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Box No.V DESIGNATION OF STATES**

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

**Regional Patent**

- ☐ **AP** ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☐ **EA** Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ **EP** European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☐ **OA** OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line) .....

**National Patent** (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> <b>AE</b> United Arab Emirates                  | <input type="checkbox"/> <b>LR</b> Liberia                                   |
| <input type="checkbox"/> <b>AL</b> Albania                               | <input type="checkbox"/> <b>LS</b> Lesotho                                   |
| <input type="checkbox"/> <b>AM</b> Armenia                               | <input type="checkbox"/> <b>LT</b> Lithuania                                 |
| <input type="checkbox"/> <b>AT</b> Austria                               | <input type="checkbox"/> <b>LU</b> Luxembourg                                |
| <input type="checkbox"/> <b>AU</b> Australia                             | <input type="checkbox"/> <b>LV</b> Latvia                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>AZ</b> Azerbaijan                            | <input type="checkbox"/> <b>MD</b> Republic of Moldova                       |
| <input type="checkbox"/> <b>BA</b> Bosnia and Herzegovina                | <input type="checkbox"/> <b>MG</b> Madagascar                                |
| <input type="checkbox"/> <b>BB</b> Barbados                              | <input type="checkbox"/> <b>MK</b> The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input type="checkbox"/> <b>BG</b> Bulgaria                              | <input type="checkbox"/> <b>MN</b> Mongolia                                  |
| <input type="checkbox"/> <b>BR</b> Brazil                                | <input type="checkbox"/> <b>MW</b> Malawi                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>BY</b> Belarus                               | <input type="checkbox"/> <b>MX</b> Mexico                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>CA</b> Canada                                | <input type="checkbox"/> <b>NO</b> Norway                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>CH and LI</b> Switzerland and Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> <b>NZ</b> New Zealand                               |
| <input type="checkbox"/> <b>CN</b> China                                 | <input type="checkbox"/> <b>PL</b> Poland                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>CU</b> Cuba                                  | <input type="checkbox"/> <b>PT</b> Portugal                                  |
| <input type="checkbox"/> <b>CZ</b> Czech Republic                        | <input type="checkbox"/> <b>RO</b> Romania                                   |
| <input type="checkbox"/> <b>DE</b> Germany                               | <input type="checkbox"/> <b>RU</b> Russian Federation                        |
| <input type="checkbox"/> <b>DK</b> Denmark                               | <input type="checkbox"/> <b>SD</b> Sudan                                     |
| <input type="checkbox"/> <b>EE</b> Estonia                               | <input type="checkbox"/> <b>SE</b> Sweden                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>ES</b> Spain                                 | <input type="checkbox"/> <b>SG</b> Singapore                                 |
| <input type="checkbox"/> <b>FI</b> Finland                               | <input type="checkbox"/> <b>SI</b> Slovenia                                  |
| <input type="checkbox"/> <b>GB</b> United Kingdom                        | <input type="checkbox"/> <b>SK</b> Slovakia                                  |
| <input type="checkbox"/> <b>GD</b> Grenada                               | <input type="checkbox"/> <b>SL</b> Sierra Leone                              |
| <input type="checkbox"/> <b>GE</b> Georgia                               | <input type="checkbox"/> <b>TJ</b> Tajikistan                                |
| <input type="checkbox"/> <b>GH</b> Ghana                                 | <input type="checkbox"/> <b>TM</b> Turkmenistan                              |
| <input type="checkbox"/> <b>GM</b> Gambia                                | <input type="checkbox"/> <b>TR</b> Turkey                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>HR</b> Croatia                               | <input type="checkbox"/> <b>TT</b> Trinidad and Tobago                       |
| <input type="checkbox"/> <b>HU</b> Hungary                               | <input type="checkbox"/> <b>UA</b> Ukraine                                   |
| <input type="checkbox"/> <b>ID</b> Indonesia                             | <input type="checkbox"/> <b>UG</b> Uganda                                    |
| <input type="checkbox"/> <b>IL</b> Israel                                | <input checked="" type="checkbox"/> <b>US</b> United States of America       |
| <input type="checkbox"/> <b>IN</b> India                                 | <input type="checkbox"/> <b>UZ</b> Uzbekistan                                |
| <input type="checkbox"/> <b>IS</b> Iceland                               | <input type="checkbox"/> <b>VN</b> Viet Nam                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>JP</b> Japan                      | <input type="checkbox"/> <b>YU</b> Yugoslavia                                |
| <input type="checkbox"/> <b>KE</b> Kenya                                 | <input type="checkbox"/> <b>ZA</b> South Africa                              |
| <input type="checkbox"/> <b>KG</b> Kyrgyzstan                            | <input type="checkbox"/> <b>ZW</b> Zimbabwe                                  |
| <input type="checkbox"/> <b>KP</b> Democratic People's Republic of Korea |  |
| <input type="checkbox"/> <b>KR</b> Republic of Korea                     |  |
| <input type="checkbox"/> <b>KZ</b> Kazakhstan                            |  |
| <input type="checkbox"/> <b>LC</b> Saint Lucia                           |  |
| <input type="checkbox"/> <b>LK</b> Sri Lanka                             |  |

Check-boxes reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

- ☐ .....
- ☐ .....

**Precautionary Designation Statement:** In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Box No. VI PRIORITY CLAIM**☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 03.12.97	9-350122	Japan		
item (2)				
item (3)				

☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s):

\* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.

**Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

**Choice of International Searching Authority (ISA)**  
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / JP

**Request to use results of earlier search; reference to that search** (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year)

Number

Country (or regional Office)

**Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING**

This international application contains the following number of sheets:

request : 4  
description (excluding  
sequence listing part) : 14  
claims : 1  
abstract : 1  
drawings : 7  
sequence listing part  
of description : 0

Total number of sheets : 27

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ separate signed power of attorney
3. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
4. ☐ statement explaining lack of signature
5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6. ☐ translation of international application into (language):
7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9. ☐ other (specify):

Figure of the drawings which  
should accompany the abstract:

Language of filing of the  
international application:

Japanese

**Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT**

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

Takayoshi Hirose (seal)

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings:  <input type="checkbox"/> received:  <input type="checkbox"/> not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	
6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid.	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy  
by the International Bureau:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference S-12-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/05470	International filing date (day/month/year) 03 December 1998 (03.12.98)	Priority date (day/month/year) 03 December 1997 (03.12.97)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/22, A61P 13/12, 9/10, 7/02		
Applicant SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO., LTD.		

- This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
- This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.  
  
☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

- This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 02 July 1999 (02.07.99)	Date of completion of this report 14 February 2000 (14.02.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 6,7

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 6,7 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The subject matter of claims 6 and 7 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require a preliminary examination by this International Preliminary Examining Authority in accordance with PCT Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv).

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2-5	YES
	Claims	1	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-5	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

The subject matter of claim 1 is considered not to be novel in view of the fact that document 1 [HGF no sayou hatsugen shihyou to shite <sup>99m</sup>Tc-GSA kecchuu shoushitsu-ritsu (The percentage of <sup>99m</sup>Tc-GSA that disappears from the blood as an indicator of the expression of the effects of HGF), (KAWA, Soukichi et al.), Basic Pharmacology & Therapeutics, 1996, Vol. 24, Suppl. 1, pages 149-152; & Abstract no. 307789, Chem. Abstr., 1996 (Columbus, OH, USA), Vol. 124; see page 150, right column, line 8 to page 151, left column, line 3] discloses a preparation for continuous intravenous administration that contains hepatocyte growth factor (HGF) as its active ingredient.

The preparation for continuous intravenous administration that contains hepatocyte growth factor (HGF) as its active ingredient and is used either in the treatment or prevention of kidney disorders, in particular renal failure, or in the treatment or prevention of vascular occlusive lesions, which constitutes the subject matter of claims 2-5, is not disclosed in document 1. However, document 2 [Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury, (IGAWA, Tsukasa et al.), Am. J. Physiol., 1993, Vol. 265, No. 1, Pt. 2, pages F61-F69; entire document], document 3 [Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice, (KAWAIDA, Kouichi et al.), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, Vol. 91, pages 4357-4361; entire document], document 4 [HGF no rinshou-ouyou - nanchisei-shikkan-chiryoyaku to shite no atarshii taagetto (Clinical applications of HGF - A new target as a drug for treating hard-to-cure disorders), (MATSUNAGA, Kunio et al.), Jikken Igaku, June 1997, Vol. 15, No. 9 (special edition), pages 1040-1047; & Abstract no. 104444, Chem. Abstr., 1997 (Columbus, OH, USA), Vol. 127; see page 1043, left column, line 22 to page 1044, right column, line 14] and document 5 [JP, 4-49246, A (Toshikazu Nakamura), 18 February, 1992 (18.02.92); & EP, 462549, A; the claims; page 5, lower left column, lines 2-18] disclose the fact that hepatocyte growth factor (HGF) can be used in the treatment or prevention of kidney disorders, in particular renal failure, and document 6 [WO, 97/12628, A1 (Gengentech Inc.), 10 April, 1997 (10.04.97); (Family: none)] discloses the fact that hepatocyte growth factor (HGF) can be used with vascular damage or the like; it is thus considered that it would be easy for a person skilled in the art to conceive of using the preparation for continuous intravenous administration disclosed in document 1 that contains hepatocyte growth factor (HGF) as its active ingredient in the treatment or prevention of kidney disorders, in particular renal failure, or in the treatment or prevention of vascular occlusive lesions involving vascular damage or the like. Accordingly, the subject matter of claims 2-5 is considered not to involve an inventive step.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

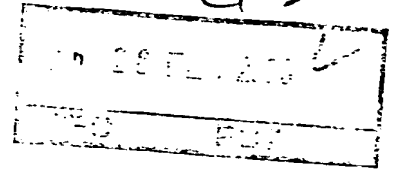


特 許 協 力 条 約

PCT


国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 S-12-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/05470	国際出願日 (日.月.年) 03.12.98	優先日 (日.月.年) 03.12.97
国際特許分類(IPC) Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/22, A61P13/12, 9/10, 7/02		
出願人(氏名又は名称)  住友製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input checked="" type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 02.07.99	国際予備審査報告を作成した日 14.02.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員)  瀬下 浩一 	4C 9284
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

1. 次にに関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

- ☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 6, 7

X この国際出願又は請求の範囲 6, 7 は、国際予備審査をすることを要しない  
次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲6, 7は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 34条(4)(a)(i)及びPCT規則67.1(iv)の規定により、この国際予備審査機関が予備審査をすることを要しない対象に係るものである。

- ☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ が、明細書による十分な  
裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

- ☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

- ☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

2-5

有

請求の範囲

1

無

進歩性(IS)

請求の範囲

有

請求の範囲

1-5

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-5

有

請求の範囲

無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1は、文献1(河 相吉 等、「HGFの作用発現指標として<sup>99m</sup>Tc-GSA血中消失率」、薬理と治療、1996年、Vol. 24、Suppl. 1、第149-52頁&Chem. abstr., Vol. 124, 1996(Columbus, OH, USA), the abstract no. 307789)の第150ページ右欄第8行-第151ページ左欄第3行に肝実質細胞増殖因子(HGF)を有効成分として含有する静脈内持続投与製剤が記載されていることから、新規性を有しない。

請求の範囲2-5の発明である、腎疾患、特に腎不全の治療又は予防に用いられる、又は、血管の閉塞性病変の治療又は予防に用いられる、肝実質細胞増殖因子(HGF)を有効成分として含有する静脈内持続投与製剤は、文献1に記載されていない。しかし、文献2(IGAWA, TSUKASA et al, Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury, Am. J. Physiol., 1993, Vol. 265, No. 1, Pt. 2, F61-F69)の文献全体、文献3(KAWAIDA, KOUICHI et al, Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, Vol. 91, pp. 4357-4361)の文献全体、文献4(松永 邦夫等、HGFの臨床応用-難治性疾患治療薬としての新しいターゲット、実験医学、1997年6月、Vol. 15、No. 9(増刊)、第1040-1047頁&Chem. abstr., Vol. 127, 1997(Columbus, OH, USA), the abstract no. 104444)の第1043ページ左欄第22行-第1044ページ右欄第14行、文献5(JP, 4-49246, A(中村 敏一)18. 2月. 1992(18. 02. 92)&EP, 462549, A)の特許請求の範囲及び第5ページ左下欄第2-18行には、肝実質細胞増殖因子(HGF)が、腎疾患、特に腎不全の治療又は予防に使用し得ることが記載されているし、文献6(WO, 97/12628, A1(GENGENTECH, INC.) 10. 4月. 1997(10. 04. 97)ファミリーなし)には、肝実質細胞増殖因子(HGF)が、血管損傷等に使用し得ることが記載されていることから、文献1記載の肝実質細胞増殖因子(HGF)を有効成分として含有する静脈内持続投与製剤を、腎疾患、特に腎不全の治療又は予防に用いられるものとする、又は、血管損傷等の血管の閉塞性病変の治療又は予防に用いられるものとするは、当業者が容易に想到し得ることである。よって、請求の範囲2-5は進歩性を有しない。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---



PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局  
特許協力条約に基づいて公開された国際出願



<p>(51) 国際特許分類6 A61K 38/22</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/27951</p> <p>(43) 国際公開日 1999年6月10日(10.06.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/05470</p> <p>(22) 国際出願日 1998年12月3日(03.12.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/350122 1997年12月3日(03.12.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友製薬株式会社 (SUMITOMO PHARMACEUTICALS CO., LTD.)[JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町2-2-8 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 山崎直樹(YAMAZAKI, Naoki)[JP/JP] 永野智一(NAGANO, Tomokazu)[JP/JP] 森 育枝(MORI, Ikue)[JP/JP] 関根道利(SEKINE, Michitoshi)[JP/JP] 〒554-0022 大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番98号 住友製薬株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 廣瀬孝美(HIROSE, Takayoshi) 〒530-0047 大阪府大阪市北区西天満5丁目13番3号 高橋ビル北3号館6階 Osaka, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。</p>
<p>(54)Title: PREPARATION FOR CONTINUOUS INTRAVENOUS ADMINISTRATION</p> <p>(54)発明の名称 静脈内持続投与用製剤</p> <p>(57) Abstract A preparation for continuous intravenous administration containing hepatocyte growth factor (HGF) as the active ingredient, which is particularly effective in treating or preventing kidney diseases or vascular occlusive lesions. This preparation makes it possible to decrease the quantity of HGF to be administered to a level lower than that of the single or frequent administration of HGF boluses, thus attaining a lowering in the side effect.</p>		

(57)要約

本発明は、肝実質細胞増殖因子（HGF）を有効成分として含有する静脈内持続投与用製剤である。本発明の持続投与用製剤は、HGFの単回又は頻回のボーラス投与と比較して投与量が低減できることから、副作用を軽減することが可能となる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TC	ターゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CC	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CJ	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェッコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		

## 明細書

### 静脈内持続投与用製剤

#### 5 技術分野

本発明は、肝実質細胞増殖因子(Hepatocyte Growth Factor)を有効成分として含有する静脈内持続投与用製剤に関する。

#### 従来の技術

10 肝実質細胞増殖因子(以下、HGFという)は成熟肝細胞に対する強力な増殖促進因子として発見され、その遺伝子クローニングがなされたタンパク質である(Biochem Biophys Res Commun, 122, 1450 (1984)、Proc. Natl. Acad. Sci, USA, 83, 6489, (1986)、FEBS Letter, 224, 311 (1987)、Nature, 342, 440 (1989)、Proc. Natl. Acad. Sci, USA, 87, 3200 (1990))。その後の研究により、HGFはin vivoにおいて肝再生因子として  
15 障害肝の修復再生に働くだけでなく、種々の薬理作用を有することが明らかとなり、肝疾患治療剤の他に、例えば腎疾患治療剤、脳神経障害治療剤、軟骨障害治療剤、動脈疾患治療剤、肺線維症治療剤などとしての開発が期待されている。例えば、上記の腎疾患に対するHGFの薬理作用について  
20 具体的に説明すると、HGFは腎再生においても中心的な役割を果たしていることが明らかとなってきた。すなわち、片腎摘出後のラットにおいて残余腎のHGF mRNAが上昇し、その結果HGF活性の上昇が起こったという報告(J. Biol. Chem., 266, 22781 (1991))、腎虚血ラットにおいてHGF mRNAが誘導され、その後HGF活性の上昇が起こったとい  
25 う報告(American Journal of Physiology, 265, 61 (1993))、また腎毒性物質による障害マウスにおいても同様にHGF mRNAの発現誘導・HGF活性上昇が起こったという報告(Nephron 73, 735 (1996))などがなされ、腎障害からの修復因子としてHGFが発現、機能していると考えられるようになった。

30 このようなHGFの機能に基き腎障害モデルに対してHGFを投与し、

薬効が確認されたという報告がなされている。すなわち前記腎虚血モデル、あるいは塩化水銀( $\text{HgCl}_2$ )やシスプラチン等の腎毒性物質による腎障害モデルは、急性腎不全の病態である急性尿細管壊死を示すことから、急性腎不全の疾患モデルとして古くから用いられているものであるが、これら腎虚血モデルあるいは腎障害モデルに対してHGFを投与した結果、いずれの障害モデルにおいても血中尿素窒素 (Blood urea nitrogen; 以後 BUN という) や血中クレアチニンなどの腎機能障害のパラメーター値の上昇が速やかに抑えられたことから、HGFは腎障害に対して修復作用を有することが明らかとなっている (American Journal of Physiology, 266, 129 (1994)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 4357 (1994))。

さらに、前記腎虚血モデル及び腎障害モデルが急性腎不全の疾患モデルであるのに対し、慢性腎不全の疾患モデルとしての性格を持つと考えられているネフローゼ自然発症マウスに対しても、HGFは顕著な薬効を示すことが明らかとなっている (日本疾患モデル学会記録 Vol.13, 113, 演題28 (1997))。

以上のように種々の動物モデルを用いたHGFの薬効評価により、急性腎不全あるいは慢性腎不全といった腎疾患に対するHGFの有効性が明らかにされている。しかし具体的なHGFの投与方法あるいは投与量等については、未だ結論が出されていない。

一般的にタンパク性製剤の場合は静脈内への投与が常識となっているが、前記腎疾患モデルに対するHGFの静脈内投与に関しては、例えば静脈内への頻回投与の例 (CYTOKINE, 8, 387 (1996)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 4357 (1994))、あるいは静脈内への単回投与の例 (J. American Society of Nephrology, 1835, 演題A2944 (1996)、日本腎臓学会誌 vol.39, 260, 演題0-302) などが知られている。しかし、前記腎疾患モデルに対してHGFを静脈内に持続的に投与したという報告は、未だなされていない。

本発明者らはHGFを腎疾患に適応するにあたり、投与量、投与方法の検討を鋭意行ってきた。腎疾患に対するHGFの投与方法として、静脈内ボラス投与及び静脈内持続投与の2通りの方法を想定して検討を行ってきた

が、静脈内ボラス投与は評価系が確立しているのに対し、静脈内持続投与は、1) 持続投与の途中でカニューレが抜けてしまう、2) カニューレが比較的抜け難い頸静脈へのカニューレーションには手術に手間がかかる、あるいは3) 動物へのストレス等により病態のコントロールが難しい、などの問題があり、その評価系の確立は困難であった。このような背景から、腎疾患モデルに対して静脈内持続投与を試みた報告はなされておらず、従ってHGFの静脈内持続投与が有効であるか否かについては明らかにされていなかった。

このような状況下、本発明者らは前記塩化水銀モデルマウスに対し、頸静脈ではなく尾静脈に翼状針を留置すること、またマウスに麻酔をすること等の幾つかの工夫を施すことにより、静脈内持続投与の評価系を確立することに成功した。そこで実際に、このモデルを用いてHGFの静脈内持続投与の効果を検討したところ、該持続投与によりHGFが顕著な薬効を示すこと、すなわちHGFの静脈内持続投与が腎疾患に対して効果を示すことを、初めて明らかにした。

さらに本発明者らは静脈内ボラス投与と前記静脈内持続投与との薬効の比較を行ったところ、驚くべきことにボラス投与と比較して該持続投与を行うことにより、その投与量が大幅に低減できることが明らかとなった。このように、従来のボラス投与と比較して投与量の低減ができるため、臨床において副作用が軽減されるという効果を有する。

かかる知見に基づき、本発明者らはさらに研究を進めたところ、血管の閉塞性病変などに対しても、HGFの静脈内持続投与はボラス投与に比べてより有効であることが判明した。より具体的には、グリセロールを筋肉内に投与するグリセロールモデルにおいては、骨格筋の障害を伴い、骨格筋組織から大量のミオグロビンが血中に遊離し、また、クレアチンキナーゼ、クレアチン、カリウム、リン酸、プリン前駆物質など種々の構成成分が血中に放出される。このように、グリセロールモデルは骨格筋組織の崩壊を伴う、横紋筋融解症、ミオグロビン尿症、挫滅症候群などの所謂NM S (Myoneuropathic-Metabolic Syndrome)モデルと位置付けられる

(別冊 日本臨床領域別症候群 17 腎臓症候群 523頁～526頁、19

97年など)。

一方、血管の閉塞性病変において、急性血管閉塞による虚血が持続すると、広範な虚血性筋壊死が生じ、血中のクレアチンキナーゼ、カリウム、ミオグロビンなどが上昇するMNMSが発生するので、グリセロールモデルは血管の閉塞性病変のモデルとも考えられ得る。このようなグリセロールモデルにおいても、HGFの静脈内持続投与はボーラス投与に比べてより効果的であり、HGFの静脈内持続投与は血管の閉塞性病変に対しても有効であることが判明した。

さらに、本発明者等は研究した結果、HGFの血小板数増加作用などにおいてもHGFの静脈内持続投与はボーラス投与に比べて有効であり、一般的にHGFの単回又は頻回の静脈内ボーラス投与よりも静脈内持続投与の方が効果的であり、低投与量で効果を発現し得るという結論が得られた。

本発明は以上のような知見に基づいてなされたものであり、本発明は、HGFを有効成分として含有する静脈内持続投与用製剤を提供することを目的とする。

#### 発明の開示

本発明は、HGFを有効成分として含有する静脈内持続投与用の製剤を提供する。特に、腎疾患、血管の閉塞性病変などの治療又は予防に有効な静脈内持続投与用の製剤を提供する。本発明の静脈内持続投与用製剤は、静脈内ボーラス投与と比較して投与量を低減することができるため、副作用を軽減できるという効果を有する。

#### 図面の簡単な説明

図1は、実施例1-3)の投与スケジュールの概要を示す図である。

図2は、本評価系に及ぼす麻酔の影響を調べた結果を示すグラフである。図中AはBUNに対する影響を、また図中Bはクレアチニンに対する影響を、それぞれ示す。

図3は、実施例1-4)の投与スケジュールの概要を示す図である。

図4は、HgCl<sub>2</sub>投与後0.5時間~5.5時間の間、HGF 200 µg/kg/hr (100

0  $\mu\text{g/kg/day}$ ) を静脈内持続投与した効果を示すグラフである。図中 A は BUN に対する効果を、また図中 B はクレアチニンに対する効果を示す。

図 5 は、実施例 2 - 2) の投与スケジュールの概要を示す図である。

5 図 6 は、 $\text{HgCl}_2$  投与後 0.5 時間～5.5 時間の間、HGF 60  $\mu\text{g/kg/hr}$  (300  $\mu\text{g/kg/day}$ )、及び HGF 200  $\mu\text{g/kg/hr}$  (1000  $\mu\text{g/kg/day}$ ) を静脈内持続投与した効果を示すグラフである。図中 A はクレアチニンに対する効果を、また図中 B は BUN に対する効果を示す。

図 7 は、実施例 2 - 3) の投与スケジュールの概要を示す図である。

10 図 8 は、 $\text{HgCl}_2$  投与後 0.5 時間～2.5 時間の間、HGF 60  $\mu\text{g/kg/hr}$  (120  $\mu\text{g/kg/day}$ )、及び HGF 200  $\mu\text{g/kg/hr}$  (400  $\mu\text{g/kg/day}$ ) を静脈内持続投与した効果を示すグラフである。図中 A はクレアチニンに対する効果を、また図中 B は BUN に対する効果を示す。

図 9 は、実施例 2 - 4) の投与スケジュールの概要を示す図である。

15 図 10 は、 $\text{HgCl}_2$  投与後 0.5 時間のみに HGF をそれぞれ 100  $\mu\text{g/kg}$  (2 群)、300  $\mu\text{g/kg}$  (3 群)、1000  $\mu\text{g/kg}$  (4 群)、3000  $\mu\text{g/kg}$  (5 群) で静脈内単回投与した効果を示すグラフである。図中 A はクレアチニンに対する効果を、また図中 B は BUN に対する効果を示す。

図 11 は、実施例 3 - 2) の投与スケジュールの概要を示す図である。

20 図 12 は、 $\text{HgCl}_2$  投与後 0.5 時間～3.5 時間の間、HGF 60  $\mu\text{g/kg/hr}$  (180  $\mu\text{g/kg/day}$ )、及び HGF 200  $\mu\text{g/kg/hr}$  (600  $\mu\text{g/kg/day}$ ) を静脈内持続投与した効果を示すグラフである。図中 A はクレアチニンに対する効果を、また図中 B は BUN に対する効果を示す。

25 図 13 は、HGF を静脈内投与したときの血小板数の増加を示すグラフである。図中 A は HGF を静脈内持続投与したときを示し (平均  $\pm$  SD、 $n=3$ 、\*\* : コントロールに対して  $p<0.01$ )、また図中 B は HGF を静脈内ボラス投与したときを示す (平均  $\pm$  SD、 $n=6$ 、\*\* : コントロールに対して  $p<0.01$ )。

発明を実施するための最良の形態

30 本発明で使用する HGF は公知物質であり、医薬として使用できる程

度に精製されたものであれば、種々の方法で調製されたものを用いることができ、また既に市販されている製品（例えば、東洋紡Code No.HGF-101等）を使用してもよい。HGFの製造法としては、例えば、HGFを産生する初代培養細胞や株化細胞を培養し、培養上清等から分離、精製して該HGFを得ることができる。あるいは遺伝子工学的手法によりHGFをコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを適当な宿主に挿入して形質転換し、この形質転換体の培養上清から目的とする組換えHGFを得ることができる（例えば Nature, 342, 440 (1989)、特開平5-111383号公報、Biochem. Biophys. Res. Commun. 163, 967 (1989)など参照）。上記の宿主細胞は特に限定されず、従来から遺伝子工学的手法で用いられている各種の宿主細胞、例えば大腸菌、酵母又は動物細胞などを用いることができる。このようにして得られたHGFは、天然型HGFと実質的に同じ作用を有する限り、そのアミノ酸配列中の1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失及び／又は付加されていてもよく、また同様に糖鎖が置換、欠失及び／又は付加されていてもよい。

本発明の静脈内持続投与用製剤は、HGFの薬効が認められている種々の疾患に対して適用することができるが、特に腎疾患、血管の閉塞性病変に対して好適に適用することができる。上記の腎疾患としては慢性腎疾患（腎症、腎不全、腎炎）及び急性腎疾患が挙げられ、具体的には例えば、急性腎不全、慢性腎不全、糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、全身性エリテメトーデス、肝疾患に伴う糸球体疾患、糖尿病性腎症、尿細管間質性腎炎、腎血管障害、高血圧性腎障害、腎尿路結石、尿路感染症、閉塞性腎症、嚢胞性腎疾患、腎・尿路腫瘍、遺伝性腎疾患、腎移植、腎移植に伴う合併症、薬剤性腎障害などが例示される。また、閉塞性病変としては、例えば、下肢虚血、急性動脈閉塞、慢性動脈閉塞、閉塞性動脈硬化症、動脈塞栓症、動脈血栓症、バージャー病、静脈閉塞、静脈血栓症、血栓性静脈炎、血管形成異常、血管損傷、冠動脈閉塞、冠動脈狭窄、肺塞栓症、臓器動脈閉塞などが含まれる（臨床脈管学、文光堂、1992年；治療学31巻、3号、284頁－338頁、1997年）。

その際、有効成分であるHGFに対し、必要に応じてpH調製剤、緩衝



剤、安定化剤、保存剤、あるいは可溶化剤等を添加しても良い。投与量としては、症状、年齢、性別等によって異なるが、例えば、腎疾患の治療・予防の場合には、 $500\mu\text{g/head/hr}$ 以下、より好ましくは $60\mu\text{g/head/hr}$ 以下で、30分から5時間、好ましくは30分から3時間かけて静脈内に注入される。また、血管の閉塞性病変の治療・予防の場合には、 $1800\mu\text{g/head/hr}$ 以下、より好ましくは $200\mu\text{g/head/hr}$ 以下で、30分から3時間、好ましくは30分から1.5時間かけて静脈内に注入される。

なお、1回の持続投与で効果が不十分であった場合は、該持続投与を複数回行うことも可能である。

本発明の静脈内持続投与用製剤の投与時期は問わないが、後述の実施例に示されるように、急性腎不全では発症初期の持続投与により著明な効果を発揮しており、患者の発症初期の段階での投与がより好ましい。

さらに、本発明の静脈内持続投与用製剤は、前記治療目的の他、予防のためにも使用することができる。例えば、虚血性あるいは腎毒性による急性腎不全はいずれも、手術による出血、あるいは抗生物質・抗腫瘍薬・造影剤等の投与に際し、その副作用として発症する疾患であることから、前記急性腎不全は、前記出血の程度あるいは前記抗生物質や造影剤の投与量の程度、あるいは患者の状態などにより、あらかじめその発症が予測できる場合がある。その場合、本発明の静脈内持続投与用製剤は、急性腎不全等の予防のためにも用いることができる。

#### 産業上の利用可能性

本発明により、HGFを有効成分として含有する静脈内持続投与用製剤が提供される。本発明の持続投与用製剤は、ボラス投与と比較して投与量が低減できることから、副作用が軽減されるという効果を有する。

#### 実施例

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

##### 実施例 1

## マウス腎疾患モデルにおけるHGFの静脈内持続投与の検討 (1)

### 1) 動物

雄性BALB/cマウス(5または6週齢)をSLCより購入し、温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、8:00~20:00までの照明、自由摂食、自由飲水の条件で予備飼育し、6.5週齢ないし8週齢で実験に供した。

### 2) マウスへの静脈内持続投与

薬液をあらかじめ1mlのシリンジ(テルモ社)にいっぱいまで充填しておき、それに三方活栓(テルモ社)を間にはさんで翼状針(テルモ社)を取り付けた(このとき翼は切りとっておく)。マウスをネンブタール麻酔( $100\text{mg/kg}$ , s.c.)し、 $37^{\circ}\text{C}$ のホットプレート上で尾静脈に針を挿入し、テープで固定した。BALB/cマウスに適当な大きさのコニカルチューブの底に呼吸のための穴をあけ、反対側にしっぽを外に出すためのスリットを開けたものをあらかじめ用意しておき、これにマウスを入れた。シリンジをインフュージョンポンプ(ニューロサイエンス社)にセットし、三方活栓でピストンの位置を揃えて、これを静脈内持続投与のための評価系とし、以降の実験(実施例1~3)に用いた。

### 3) 麻酔の影響の検討

前記2)に記載のように本評価系ではネンブタール麻酔を行うので、これがモデルのでき方やHGFの薬効に影響を与えるかどうかをまず検討した。投与スケジュールの概要を図1に示す。

8週齢の雄性BALB/cマウスを1群8匹で4群に分け、全群に $\text{HgCl}_2$ を $8.5\text{mg/kg}$ で背部皮下投与した。この時を0時間とした。 $-12$ 時間から12時間まで絶食・絶水処置した。第1群と第2群には $\text{HgCl}_2$ 投与前にネンブタールを $100\text{mg/kg}$ で後部背部皮下投与した。 $\text{HgCl}_2$ 投与後0.5, 6, 12, 24, 36時間に、第1群と第3群にはvehicleを、第2群と第4群にはHGFをそれぞれ投与した。HGFは $500\mu\text{g/kg/shot}$ とした。48時間後に全群から採血し、血清分離して尿素窒素(BUN)量とクレアチニン量を測定した(シンクロンCX3システムデルタ:バックマン社製を使用)。HGFはヒト組換え型HGF(以下の実験でも同様)を、vehicleは0.01% Tween80, 0.3M NaClを含む10mMクエン酸バッファー(pH6.0)を使用した。データの統計処理はTukey's testで行った。

結果を図2に示す。クレアチニン値については、麻酔の有無にかかわらず、その上昇の程度に大差はなかった。またHGFによってクレアチニンの有意な抑制がみられたが、効果の程度は麻酔による影響をほとんど受けなかった。このことから、HGFの薬効を評価する際に麻酔の影響は気にしなくてよいことが分かった。

#### 4) 静脈内持続投与による薬効の確認

投与スケジュールの概要を図3に示す。

8週齢の雄性BALB/cマウスを1群10匹で2群に分け、全群にHgCl<sub>2</sub>を8.5mg/kgで背部皮下投与した。この時を0時間とした。-12時間から12時間まで絶食・絶水処置した。第1群にvehicle、第2群にはHGFを、それぞれ前記2)の評価系を用いて静脈内持続投与した。HgCl<sub>2</sub>投与直前にマウスをネンブタール麻酔(100mg/kg, s.c.)し、HgCl<sub>2</sub>投与後0.5時間から上述の方法で持続投与を行った。HGFの投与量は1000  $\mu$ g/kg/dayとし、200  $\mu$ g/kg/hrで5時間の持続投与を行った。48時間に全群から採血し、血清分離して尿素窒素(BUN)量とクレアチニン量を測定した(シンクロンCX3システムデルタ:ベックマン社製を使用)。データの統計処理はt-testで行った。

図4に実験結果を示す。BUN、クレアチニンともにHGFの静脈内持続投与により有意に抑制された。従ってHGFの静脈内持続投与が腎疾患に対し有効であることが明らかとなった。

#### 実施例2

##### マウス腎疾患モデルにおけるHGFの静脈内持続投与の検討(2)

#### 1) 動物

雄性BALB/cマウス(6週齢)をSLCより購入し、温度23 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C、湿度55 $\pm$ 10%、8:00~20:00までの照明、自由摂食、自由飲水の条件で予備飼育し、6.5週齢で実験に供した。

#### 2) HGFの投与量低減化の試み(1)

実施例1-4)にて200  $\mu$ g/kg/hrの投与速度で5時間HGFを投与して、有効性を確認したので、次にHGFの投与速度を200  $\mu$ g/kg/hrから60  $\mu$ g/kg/hrに減らして5時間持続投与を行った。投与スケジュールの概要を図5に示

す。

雄性BALB/cマウス(6.5週)を1群10匹で3群に分け、ネンブタール(100mg/kg s.c.)で麻酔し、すぐに全群にHgCl<sub>2</sub>を8.5mg/kgで背部皮下投与した。このときを0時間とした。また、-12時間から12時間まで、絶食・絶水処置を行なった。第1群にはvehicleを、第2群にはHGFを60  $\mu$ g/kg/hr(300  $\mu$ g/kg/day)で、第3群にはHGFを200  $\mu$ g/kg/hr(1000  $\mu$ g/kg/day)で、0.5時間から5.5時間まで静脈内に持続投与した。48時間に全群から採血し、血清分離して尿素窒素(BUN)量とクレアチニン量を測定した(シンクロンCX3システムデルタ:ベックマン社製を使用)。データの統計処理はBartlettの検定で等分散性が否定されたので、ノンパラメトリック検定(nonparametric test)で行った。

結果を図6に示す。陽性コントロールである200  $\mu$ g/kg/hr(1000  $\mu$ g/kg/day)よりは若干効力が落ちるものの、60  $\mu$ g/kg/hr(300  $\mu$ g/kg/day)でもクレアチニンの上昇を有意に抑制した。BUNは有意差はなかったものの、抑制傾向を示した。

### 3) HGFの投与量低減化の試み(2)

前記2)の5時間の持続投与のうち、後半の3時間を削って0.5時間からの2時間の持続投与を試みた。投与スケジュールの概要を図7に示す。

雄性BALB/cマウス(6.5週)を1群10匹で3群に分け、ネンブタール(100mg/kg s.c.)で麻酔し、すぐに、全群にHgCl<sub>2</sub>を8.5mg/kgで背部皮下投与した。このときを0時間とした。また、-12時間から12時間まで、絶食・絶水処置を行なった。第1群にはvehicleを、第2群にはHGFを60  $\mu$ g/kg/hr(120  $\mu$ g/kg/day)で、第3群にはHGFを200  $\mu$ g/kg/hr(400  $\mu$ g/kg/day)で、0.5時間から2.5時間まで静脈内持続投与した。48時間に全群から採血し、血清分離して尿素窒素(BUN)量とクレアチニン量を測定した(シンクロンCX3システムデルタ:ベックマン社製を使用)。データの統計処理はBartlettの検定で等分散性が否定されたので、ノンパラメトリック検定で行った。

結果を図8に示す。この実験ではBUN、クレアチニンともに、有意な改善はなかったが、改善傾向は認められた。

### 4) HGFの静脈内単回投与の用量-反応相関

静脈内持続投与との比較のために、HGFの静脈内単回投与の用量-反応相関を検討した。投与スケジュールの概要を図9に示す。

5 雄性BALB/cマウスを1群10匹で5群に分け、全群にHgCl<sub>2</sub>を8.5mg/kgで背部皮下投与した。このときを0時間とした。また、-12時間から12時間まで、絶食・絶水処置を行った。第1群には、HgCl<sub>2</sub>投与後0.5時間のみにvehicleを尾静脈内投与した。第2群から第5群には、0.5時間のみにHGFをそれぞれ100, 300, 1000, 3000  $\mu$ g/kgで尾静脈内投与し、48時間に全群から採血し、血清分離して尿素窒素 (BUN) 量とクレアチニン量を測定した (シンクロンCX3システムデルタ: バックマン社製を使用)。データの統計処理はDunnett's testで行った。

10 結果を図10に示す。クレアチニンでみると、1000  $\mu$ g/kg/day以上の投与量で有意な改善が認められたが、300  $\mu$ g/kg/dayでは改善傾向が認められたにとどまり、100  $\mu$ g/kg/dayでは効果は認められなかった。それに対し、静脈内持続投与では300  $\mu$ g/kg/dayで有意な改善が認められ (前記2) 15、また120  $\mu$ g/kg/dayでも改善傾向が認められた (前記3)。以上の結果より、静脈内単回投与と比較して静脈内持続投与の方が投与量が少なくて済むことが明らかとなった。なお本発明者らは別途、総投与量を合わせて静脈内頻回投与と単回投与との薬効を比較した結果、単回投与でも頻回投与と同様の効果が得られることを明らかにしている (日本腎臓学会誌 vol. 20 39, 260, 演題0-302)。従ってHGFの静脈内持続投与は、単回あるいは頻回の静脈内ボラス投与と比較して、投与量を低減することができる。

### 実施例 3

#### マウス腎疾患モデルにおけるHGFの静脈内持続投与の検討 (3)

##### 25 1) 動物

雄性BALB/cマウスを6週齢でSLCより購入し、温度23 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C、湿度55 $\pm$ 10%、8:00~20:00までの照明、自由摂食、自由飲水の条件で予備飼育し、実験に供した。

##### 2) HGFの投与量低減化の試み

30 前記実施例2-2)において300  $\mu$ g/kg/dayまで投与量を低減できたが1

20  $\mu\text{g/kg/day}$ では改善傾向が示されたに留まり、有意な改善には至って  
なかった。そこでそのほぼ中間の投与量の180  $\mu\text{g/kg/day}$ にて検討を行っ  
た。投与スケジュールの概要を図11に示す。

5 雄性BALB/cマウス(6.5週)を1群10匹で3群に分け、ネンブタール(100mg/  
kg s.c.)で麻酔し、その直後に、全群に $\text{HgCl}_2$ を9mg/kgで背部皮下投与し  
た。このときを0時間とした。また、-12時間から24時間まで、絶食・絶水  
処置を行った。第1群にはvehicleを、第2群にはHGFを60  $\mu\text{g/kg/h}$ (180  $\mu\text{g/}$   
10  $\text{kg/day}$ )で、第3群(陽性コントロール)にはHGFを200  $\mu\text{g/kg/h}$ (600  $\mu\text{g/kg/}$   
 $\text{day}$ )で、0.5時間から3.5時間まで静脈内持続投与した。48時間に全群か  
ら採血し、血清分離して、クレアチニンと尿素窒素(BUN)を測定した(シ  
ンクロンCX3システムデルタ:ベックマン社製を使用)。データの統計処  
理は、Bartlettの検定で等分散性が否定されたのでノンパラメトリック検  
定によって行った。

結果を図12に示す。HGF180  $\mu\text{g/kg/day}$ 投与群はvehicle投与群に対し  
15 て、クレアチニン、BUNの上昇を有意に抑制した。また、その程度は陽性  
コントロールの600  $\mu\text{g/kg/day}$ とほぼ同程度であった。

#### 実施例4

##### ラットグリセロールモデルを用いたHGFの静脈内持続投与の検討

###### 1) 材料と方法

20 7-8週齢の雄性Wistar系ラット(体重約200g)を実験に用いた。前日の  
晩から絶水状態(15時間)にしたラットに、エーテル麻酔下で50%グリセ  
ロールを筋肉内投与(10ml/kg)し、さらに8時間後まで絶水処置を続け  
ることによりモデルを作製した。そして、グリセロール投与8時間後から  
25 HGFを1mg/kgの投与量で尾静脈内に持続投与した(30分間)。投与11日後  
まで、経過を観察した。

また、同様に作製したモデルにHGFをグリセロール投与8時間後から計  
3回、尾静脈内にボラス投与し(計750  $\mu\text{g/kg}$ )、経過を観察した。

###### 2) 結果

30 グリセロール投与後11日目の生存率は、持続投与の場合は、対照群2/

8、HGF群8/10であった。カイ二乗検定を用いて検定したところ、HGFが生存率を有意に ( $P<0.05$ ) 高めていることがわかった。一方、ボーラス投与の場合は、対照群5/8、HGF群5/8となり、HGFによる救命効果はみられなかった。従って、ボーラス投与よりも持続投与の方が有利な傾向にあることが分かった。

以上のことから、ラットグリセロールモデルに対して、HGFの静脈内持続投与はボーラス投与よりも有効であることが明らかとなった。従って、グリセロールモデルと同じくMNMSの発生する血管の閉塞性病変において、静脈内ボーラス投与よりも静脈内持続投与の方が有効であることが判明した。

## 実施例 5

### 血小板数の増加に対するHGFの静脈内持続投与の検討

#### 1) 材料と方法

7-8週齢の雄性Fisher系ラットを実験に用いた。持続投与の場合は、HGFを0.01%Tween80、0.25%HASを含むPBSをvehicleとして2ml/kg/2hrになるように希釈し、尾静脈内に投与した。1回の投与量は0.25mg/kgとしコントロールにはvehicleのみを投与した。1日2回、連続7日間投与し、最終投与日の翌日に採血を行い、半自動血球数解析装置（シスメックス、F-800）を用いて血小板数を測定した。

ボーラス投与の場合は、HGFをvehicleで1ml/kg/shotになるように希釈し、尾静脈内に投与した。1回の投与量は0、0.125、0.25、0.5、1、2mg/kgとし、1日2回、連続7日間行った。

#### 2) 結果

結果を図13に示した。ボーラス投与の場合は、0.5mg/kgx2/dayの投与量以上で有意に血小板数を増加させた。一方持続投与の場合は、0.25mg/kgx2/dayの投与量でも有意に血小板数を増加させた。よって、持続投与の方が少ない投与量で血小板数を増加できることが明らかとなった。

## 製剤例 1

生理食塩水 100 ml 中に HGF 1 mg、マンニトール 1 g 及びポリソ  
ルベート 80 10 mg を含む溶液を無菌的に調製し、1 ml ずつバイア  
ルに分注した後、凍結乾燥して密封することにより凍結乾燥製剤を得た。

5 製剤例 2

0.02 M リン酸緩衝液 (0.15 M NaCl 及び 0.01 % ポリソ  
ルベート 80 含有、pH 7.4) 100 ml 中に HGF 1 mg 及びヒト血  
清アルブミン 100 mg を含む水溶液を無菌的に調製し、1 ml ずつバイ  
アルに分注した後、凍結乾燥して密封することにより凍結乾燥製剤を得た。

10

15

20

25

30



## 請求の範囲

1. 肝実質細胞増殖因子（HGF）を有効成分として含有する静脈内持続  
投与用製剤。

5 2. 腎疾患の治療又は予防に用いられる、請求の範囲 1 記載の静脈内持続  
投与用製剤。

3. 腎疾患が急性腎不全又は慢性腎不全である、請求の範囲 2 記載の静脈  
内持続投与用製剤。

10 4. 血管の閉塞性病変の治療又は予防に用いられる、請求の範囲 1 記載の  
静脈内持続投与用製剤。

5 5. 血管の閉塞性病変が、下肢虚血、急性動脈閉塞、慢性動脈閉塞、閉塞  
性動脈硬化症、動脈塞栓症、動脈血栓症、バージャー病、静脈閉塞、静脈  
血栓症、血栓性静脈炎、血管形成異常、血管損傷、冠動脈閉塞、冠動脈狭  
窄、肺塞栓症又は臓器動脈閉塞である、請求の範囲 4 記載の静脈内持続投  
与用製剤。

15 6. 有効量の HGF を静脈内に持続投与することからなる腎疾患の治療又  
は予防方法。

7. 有効量の HGF を静脈内に持続投与することからなる血管の閉塞性病  
変の治療又は予防方法。

20

25

30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

図 1

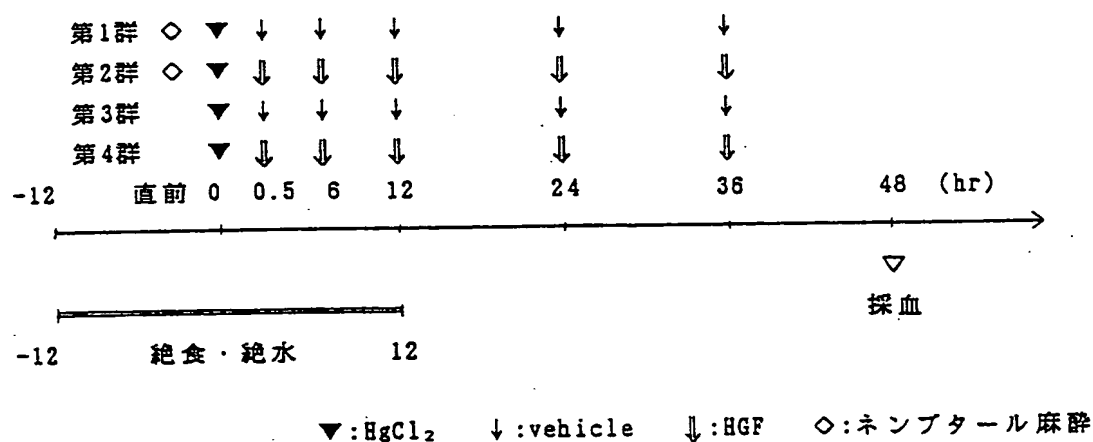
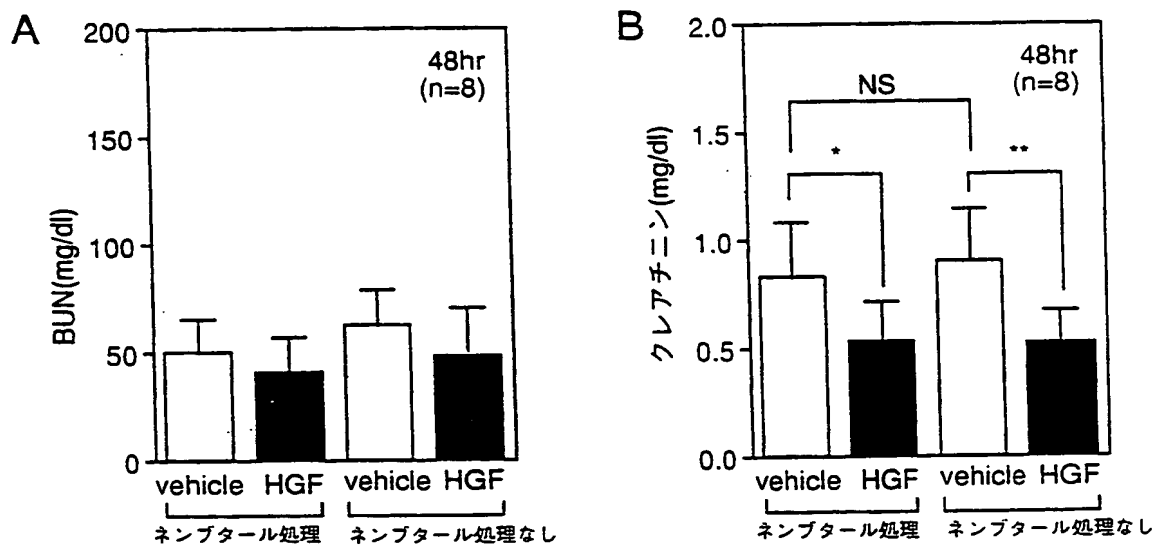


図 2



Mea $\pm$ SD, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, NS: not significant (Tukey's test)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

図 3

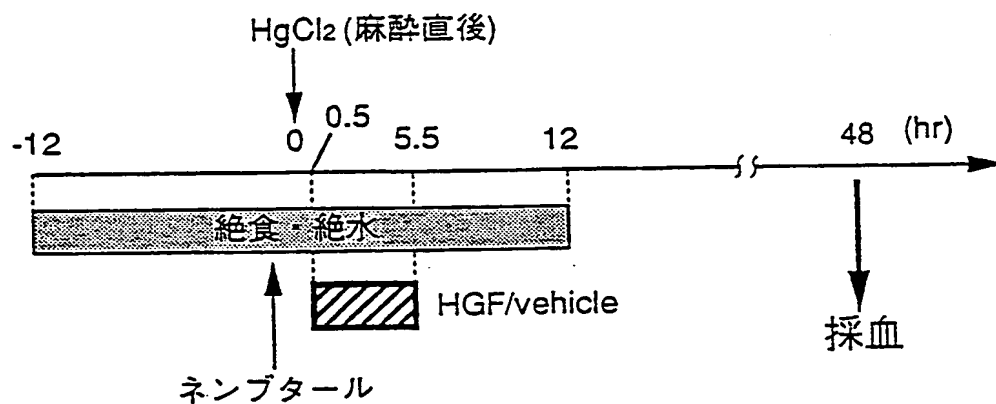
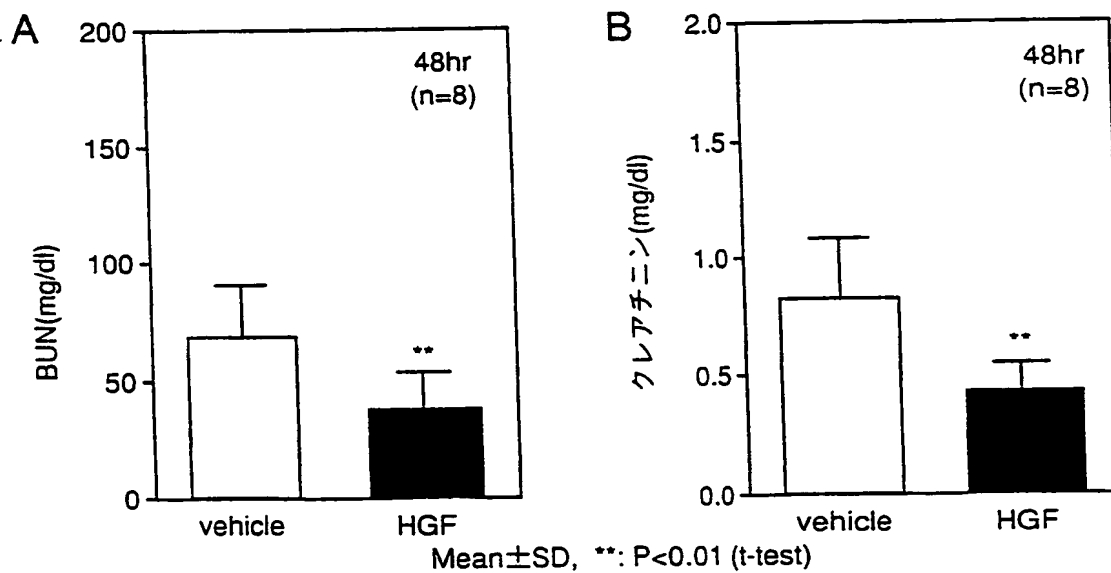


図 4



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

図 5

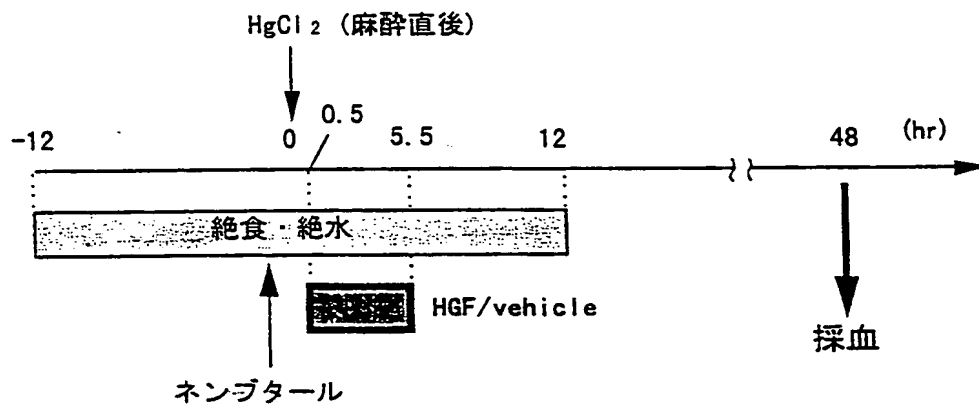
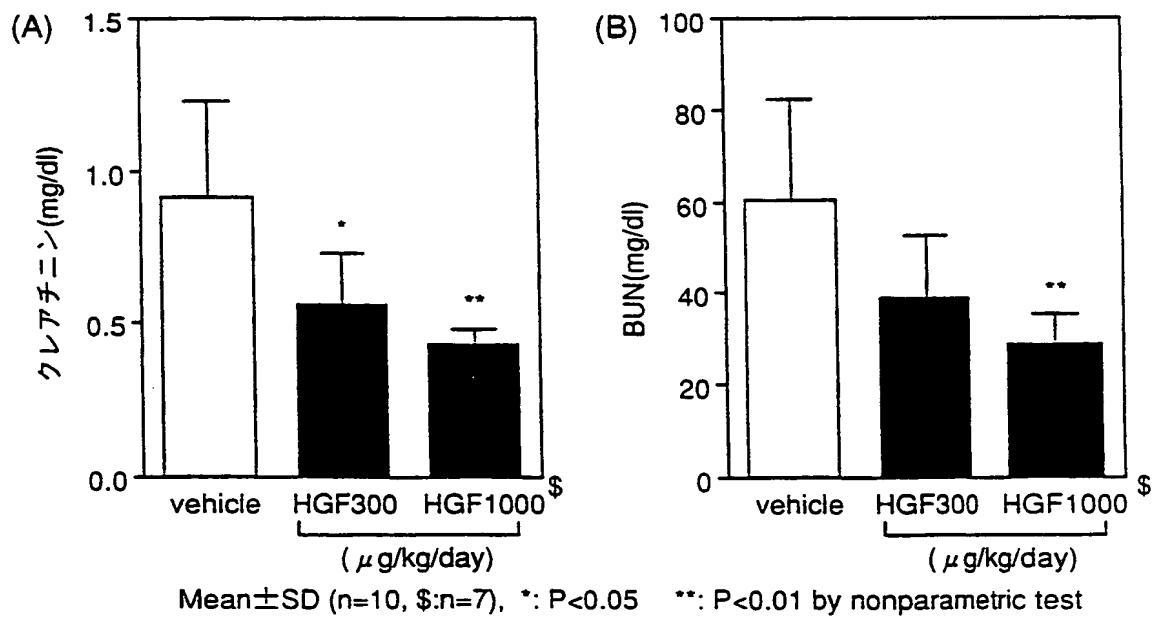


図 6



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



図 7

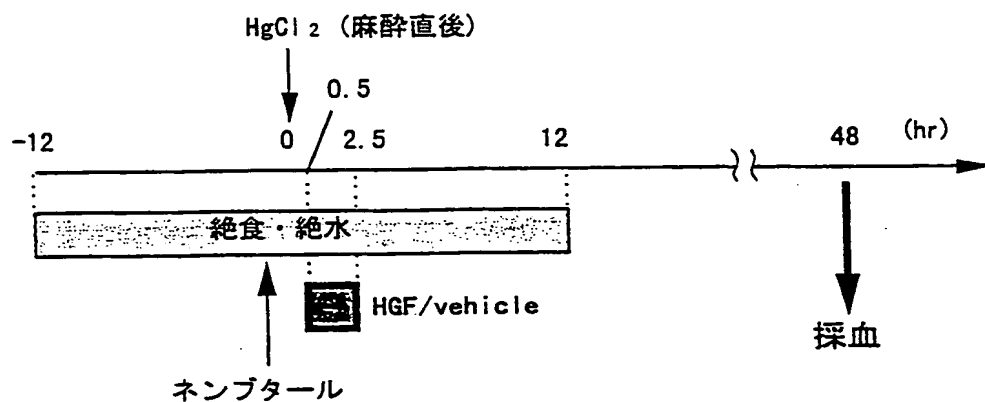
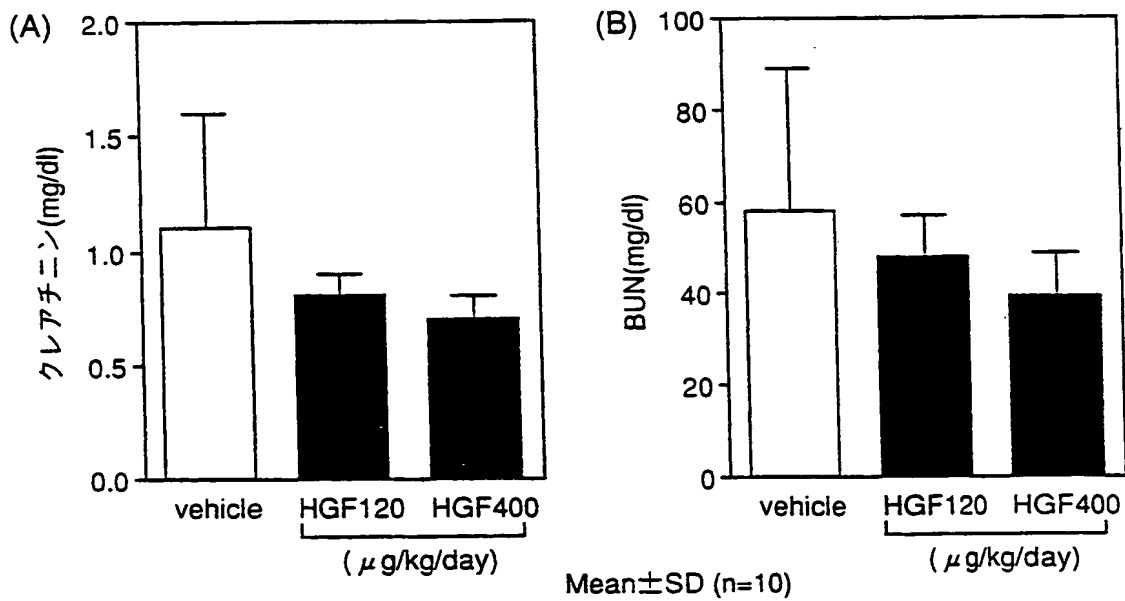


図 8



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

図 9

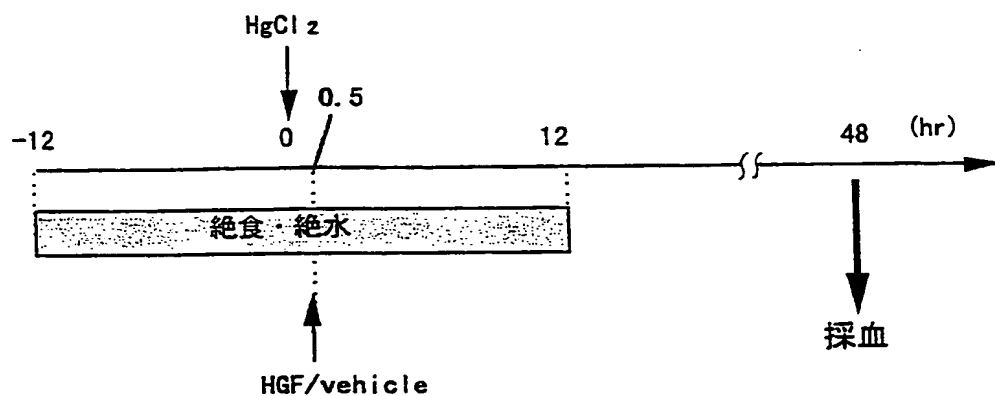
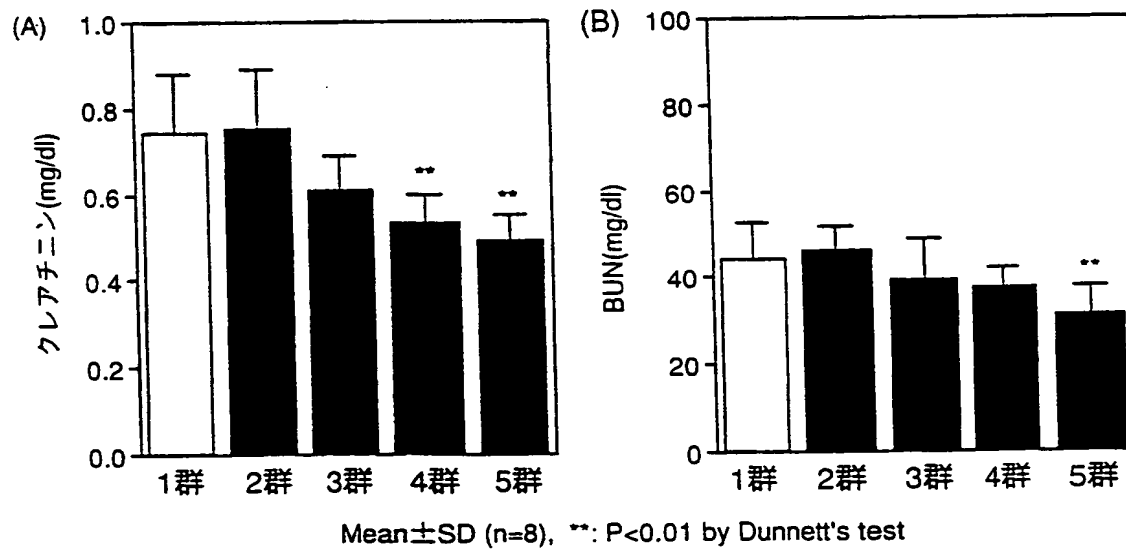


図 10



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

図 1 1

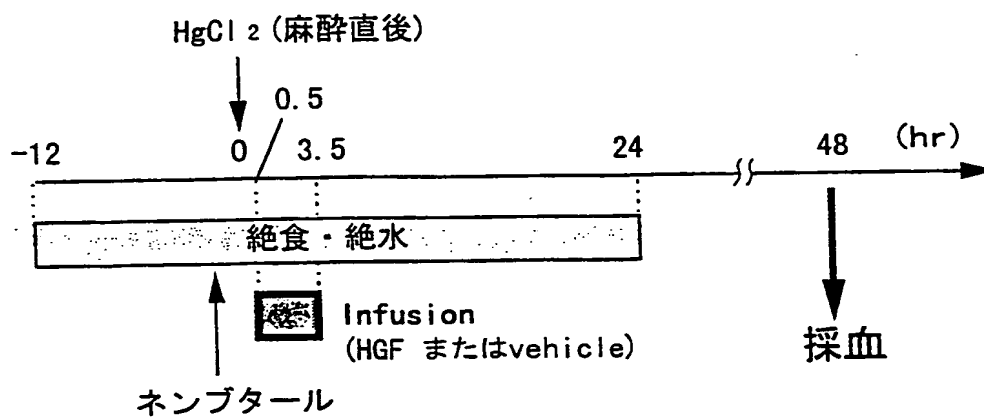
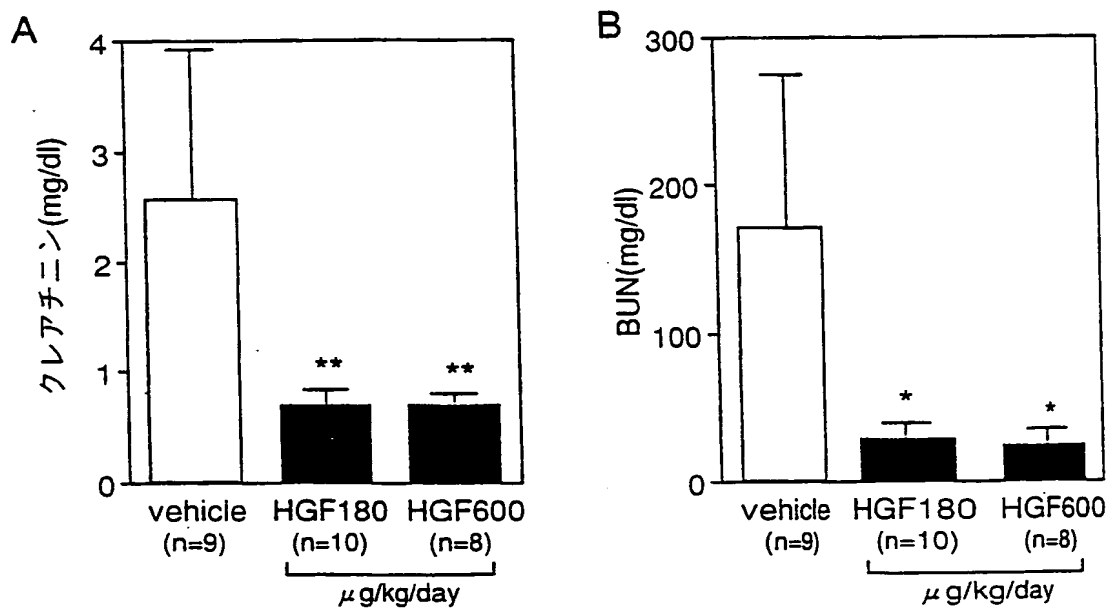


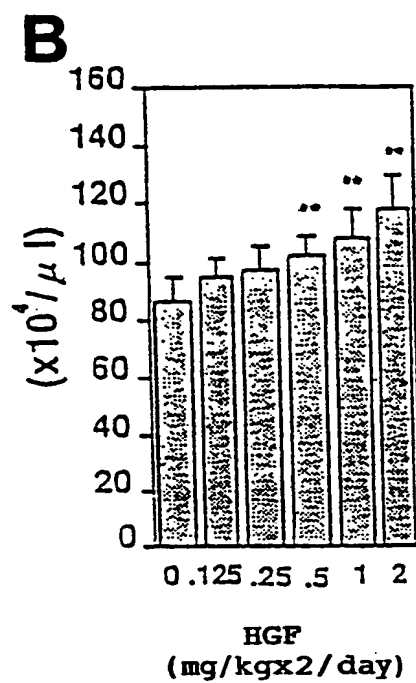
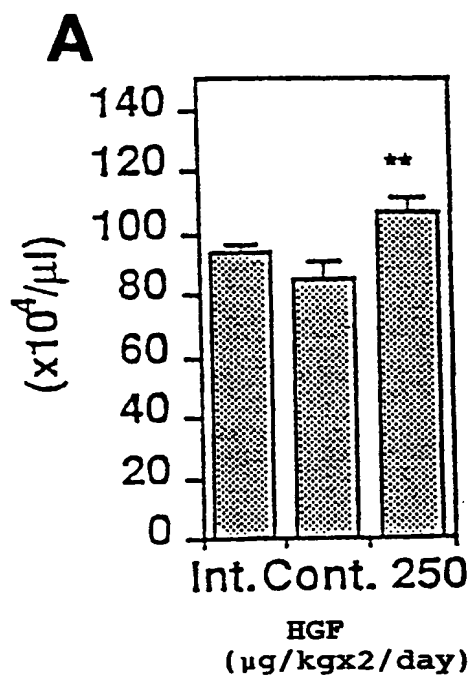
図 1 2



Mean  $\pm$  SD, \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$  by nonparametric test

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig 1 3



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>6</sup> A61K38/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl.<sup>6</sup> A61K38/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Soukichi Kawa et al., "HGF no sayou hatsugen shihyou to shite <sup>99m</sup> Tc-GSA kecchuu shoushitsu ritsu", Basic Pharmacology & Therapeutics, 1996, Vol. 24, Suppl. 1, pages 149 to 152 & Chem. abstr., Vol. 124, 1996 (Columbus, OH, USA), the abstract no. 307789	1 2-5
Y	IGAWA, TSUKASA et al., Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury, Am. J. Physiol., 1993, Vol. 265, No. 1, Pt. 2, F61-F69	2, 3
Y	KAWAIDA, KOUICHI et al., Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, Vol. 91, pp.4357-4361	2, 3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search  
19 March, 1999 (19. 03. 99)

Date of mailing of the international search report  
6 April, 1999 (06. 04. 99)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kunio Matsunaga et al., "HGF no rinshou ouyou-nanchisei shikkan chiryouyaku to shite no atarashii Target", Jikken Igaku, 1997, June, Vol. 15, No. 9 (special edition), pages 1040 to 1047 Chem. abstr., Vol. 127, 1997 (Columbus, OH, USA), the abstract no. 104444	2, 3
Y	JP, 4-49246, A (Toshikazu Nakamura), 18 February, 1992 (18. 02. 92) & EP, 462549, A	2, 3
Y	WO, 97/12628, A1 (GENGENTECH, INC.), 10 April, 1997 (10. 04. 97) (Family: none)	4, 5

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05470

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6, 7

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 6 and 7 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, and thus relate to subject matters which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> A61K38/22

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> A61K38/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	河 相吉 等、「HGFの作用発現指標として <sup>99m</sup> Tc-GSA血中消失率」、薬理と治療、1996年、Vol. 24、Suppl. 1、第149-52頁&Chem. abstr., Vol. 124, 1996(Columbus, OH, USA), the abstract no. 307789	1 2-5
Y	IGAWA, TSUKASA et al, Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury, Am. J. Physiol., 1993, Vol. 265, No. 1, Pt. 2, F61-F69	2, 3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 03. 99

国際調査報告の発送日

06.04.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

河下 浩一 印

4C 9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3453

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	KAWAIDA, KOUICHI et al, Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, Vol.91, pp.4357-4361	2, 3
Y	松永 邦夫 等、HGFの臨床応用－難治性疾患治療薬としての新しいターゲット、実験医学、1997年6月、Vol. 15、No. 9 (増刊)、第1040-1047頁& Chem. abstr., Vol.127, 1997 (Columbus, OH, USA), the abstract no.104444	2, 3
Y	JP, 4-49246, A (中村 敏一) 18. 2月. 1992 (18. 02. 92) & EP, 462549, A	2, 3
Y	WO, 97/12628, A1 (GENENTECH, INC.) 10. 4月. 1997 (10. 04. 97) ファミリーなし	4, 5

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 6, 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 6, 7 は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査期間が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**